



REC'D 01 APR 2003

WIPO PCT

ZASWIADCZENIE

Instytut Włókien Chemicznych

Łódź, Polska

złożył w Urzędzie Patentowym Rzeczypospolitej Polskiej dnia 07 lutego 2002 r. podanie o udzielenie patentu na wynalazek pt.,, Sposób oczyszczania chitozanu z białek.”

Dołączone do niniejszego zaświadczenia opis wynalazku, zastrzeżenia patentowe są wierną kopią dokumentów złożonych przy podaniu w dniu 07 lutego 2002 r.

Podanie złożono za numerem P-352079.

Warszawa, dnia 20 lutego 2003 r.

z upoważnienia Prezesa

  
mgr Jowita Mazur  
Specjalista

**PRIORITY  
DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

BEST AVAILABLE COPY

### **Sposób oczyszczania chitozanu z białek**

Przedmiotem wynalazku jest sposób oczyszczania chitozanu z białek.

Z publikacji w: „Journal of Applied Polymer Science”, tom 2, str.380, rok 1980, „Fishery Technology”, tom 11, str.50, rok 1974, „Carbohydrate Research”, tom 38, str.35, rok 1974, „Journal of Food Science Technology”, tom 12, str.187, rok 1975, „Journal of Organic Chemistry”, tom 27, str.161, rok 1962, „Biotechnology & Bioengineering”, tom 20, st.1931, rok 1978, „Journal of Agriculture and Food Chemistry”, tom 37, str.5-75, rok 1989, „Journal of Agriculture and Food Chemistry”, tom 39, str.1527, rok 1991, „Acta Polymer”, tom 45, str.41, rok 1994, „Food Biotechnology”, tom 7, str.253, rok 1993 oraz z amerykańskich patentów nr nr US 3533940, US 3862122, US 3922260, US 4066735, US 4195175, US 4199496, polskiego patentu PL 119931 i polskiego zgłoszenia patentowego P.281975 znane są sposoby zmniejszania zawartości białka w chitynie i chitozanie. Sposoby te polegają na tym, że pancerze skorupiaków morskich lub insektów poddaje się obróbce wodnym roztworem wodorotlenku, jak wodorotlenek sodowy, potasowy czy wapniowy, lub jego soli, jak węglan sodowy, kwaśny węglan sodowy, siarczyn sodowy, kwaśny siarczyn sodowy, siarczek sodowy czy fosforan sodowy, o stężeniu 0,5 – 10 % wagowych, w temperaturze 20 – 150°C, w czasie 1 – 72 godzin. Sposoby te zmniejszają zawartość białka w chitynie i chitozanie, jednakże nie pozwalają na całkowite jego usunięcie.

Znany jest również z patentów US 5623064 i US 5624679 sposób otrzymywania chityny i chitozanu o wysokiej czystości bez zawartości białka, polegający na obróbce mechanicznej lub enzymatycznej glonów ze szczepów *Coscinodiscus* genus, *Cyclotella* genus i *Thalassiosira* genus. W sposobie tym otrzymaną biomasę obrabia się wodnym roztworem kwasu solnego w temperaturze 70°C, wodą oraz alkoholem, zaś białko usuwa się poprzez działanie detergentami, np. solą sodową dodecylosulfonianu. Sposób ten charakteryzuje się niską wydajnością oraz podatnością poliaminosacharydów na degradacje hydrolityczną w środowisku kwaśnym. Ponadto sposób ten nie znajduje

zastosowania do oczyszczania z białka chityny i chitozanu pochodzących z głównych źródeł surowcowych jakimi są pancerze organizmów morskich oraz insekty.

Znany jest z patentu US 5053113 sposób elektrochemicznej deproteinizacji i demineralizacji surowców zawierających chitynę w obecności wodnych roztworów wodorotlenków, przy stosowaniu prądu elektrycznego o natężeniu 4-11A i napięciu 15-50V w czasie 10-45 minut.

Znany jest także z patentu US 6310188 sposób wytwarzania chityny i chitozanu polegający na przekształcaniu pancerzy skorupiaków morskich w formę amorficzną poprzez ich ogrzewanie w temperaturze 78°C i chłodzenie w ciekłym azocie, a następnie wytwarzaniu chityny, w tym jej deproteinizację, z amorficznych pancerzy w wodnym roztworze wodorotlenku sodowego.

Opisane wyżej sposoby nie zapewniają otrzymanie chitozanu o zawartości białek poniżej 10 ppm.

Sposób według wynalazku polega na tym, że chitozan zawierający białka, rozpuszczony w wodnym roztworze kwasu, jak kwas solny, octowy czy mlekowy, przy stężeniu polimeru w roztworze nie niższym niż 0,001% wagowego, korzystnie 0,5 - 2% wagowych, poddaje się aglomeracji za pomocą wodnego roztworu wodorotlenku i/lub jego soli w czasie nie krótszym niż 1 minuta, korzystnie 30 - 120 minut, przy intensywnym mieszaniu z prędkością 100 - 1000 obrotów/minutę. Wytrącony aglomerowany mikrokrystaliczny produkt poddaje się działaniu wodnego roztworu wodorotlenku i/lub jego soli o stężeniu nie niższym niż 0,1% wagowego, korzystnie 1 - 10% wagowych, w czasie 1 minuty do 100 godzin. Następnie ze środowiska reakcji usuwa się wodny roztwór wodorotlenku i/lub jego soli zawierający rozpuszczone białka, a pozostały produkt przemywa się wodą i/lub alkoholem, korzystnie alkoholem etylowym do całkowitego usunięcia zanieczyszczeń, po czym zatęża się go i ewentualnie suszy znanymi sposobami.

Proces aglomeracji chitozanu można według wynalazku prowadzić dwuetapowo. Pierwszy etap - etap alkalizacji prowadzi się za pomocą wodnego roztworu wodorotlenku i/lub jego soli do uzyskania pH = 6,0 - 6,5, a następujący po nim proces właściwej aglomeracji produktu mikrokrystalicznego prowadzi się za pomocą wodnego roztworu wodorotlenku i/lub jego soli o niższym niż w pierwszym etapie stężeniu, przy zachowaniu stosunku stężeń w obu etapach wynoszącego odpowiednio od 1 : 0,1 do 1 : 0,9.

W procesie aglomeracji stosuje się wodne roztwory wodorotlenku potasowego lub sodowego i/lub ich soli, jak węglan potasowy czy węglan sodowy.

Według wynalazku wodny roztwór wodorotlenku i/lub jego soli zawierający rozpuszczone białka usuwa się ze środowiska reakcji poprzez filtrację, ultrafiltrację, sedymentację czy odwirowanie.

Oczyszczanie chitozantu z białek według wynalazku następuje poprzez usuwanie białek z aglomerowanej formy mikrokrystalicznego chitozantu w wyniku ich rozpuszczania w wodnym roztworze alkaliów. Specyficzna struktura aglomerowanego chitozantu, tzn. jego porowatość, wysoki wskaźnik wtórnego pęcznienia powyżej 500% oraz rozwinięty system kapilarny i mikrokapilarny, a także powierzchnia wewnętrzna ułatwiają dyfuzję alkaliów do jego struktury i w konsekwencji rozpuszczenie białek. W sposobie tym następuje rozbicie trwałych powiązań kompleksowych białek z chitozanem wyjściowym poprzez rozpuszczenie poliaminosacharydu, a następnie jego aglomerację z roztworu. Zastosowanie dwuetapowego procesu aglomeracji pozwala na uzyskanie aglomerowanego chitozantu o szczególnie rozwiniętej powierzchni wewnętrznej dostępnej dla penetracji alkaliów i rozpuszczania białek.

Zaletą sposobu według wynalazku jest możliwość maksymalnego usuwania białek z rozbudowanej struktury chitozantu w drodze obróbki wodnym roztworem wodorotlenków i/lub ich soli, a także w wyniku przemywania wodą przy zmniejszającym się stopniowo odczynie alkalicznym aglomerowanego chitozantu, co ułatwia wymywanie białek ze struktury polimeru. Wytworzona w sposobie według wynalazku struktura produktu mikrokrystalicznego jest szczególnie podatna na procesy wymiany rozpuszczalnikowej, w tym obróbki alkalicznej, co w istotny sposób sprzyja usuwaniu białek.

Chitozan oczyszczany sposobem według wynalazku charakteryzuje się dużym stopniem czystości i zawartością białek poniżej 10 ppm. Jest przydatny do stosowania w medycynie, farmacji czy biotechnologii.

Przedmiot wynalazku ilustrują poniższe przykłady nie ograniczając jego zakresu.

Przykład I. Do mieszalnika zaopatrzonego w mieszadło i płaszcz chłodzący wprowadzono 99 cz. wag 0,4% wodnego roztworu kwasu solnego i 1 cz. wag. chitozanu w postaci płatków o wiskozymetrycznie średnim ciężarze cząsteczkowym  $\bar{M}_v = 796$  kD, stopniu deacetylowania DD = 85,6%, wskaźniku wtórnego pęcznienia WRV=76,6%, wilgotności 11,1%, zawartości popiołu 0,21%, i zawartości białek równej 350 ppm. Chitozan rozpuszczano przy mieszaniu z prędkością 120 obr/min w czasie 2 godzin, po czym uzyskany roztwór filtrowano na prasie ramowej otrzymując 96 cz. wag roztworu zawierającego 0,99% wag chitozanu. Do przefiltrowanego roztworu w reaktorze zaopatrzonym w płaszcz chłodzący i wysokoobrotowe mieszadło, przy ciągłym mieszaniu

z prędkością 480 obr/min, dodawano stopniowo 53,5 cz. wag. 0,75% wodnego roztworu wodorotlenku sodowego do uzyskania pH= 8,2 i pełnego wytrącenia aglomerowanego produktu mikrokrystalicznego. Uzyskaną dyspersję zatężano na nuczy otrzymując 40 cz. wag aglomeratu, który wprowadzono do mieszalnika wyposażonego w wolnoobrotowe mieszadło i poddano go działaniu 80 cz. wag. 5,0% wodnego roztworu wodorotlenku sodowego przez 3 godziny w temperaturze 20<sup>0</sup>C, przy mieszaniu z prędkością 30 obr/min. Następnie mieszanie zatężano na nuczy uzyskując 40 cz. wag. dyspersji chitozanu, który ponownie przenoszono do mieszalnika i zalewano 40 cz. wag. wody demineralizowanej o pH=6,5. Zawartość mieszalnika homogenizowano przez 15 min i filtrowano kontrolując zawartość białka w przesączu i dyspersji. Proces przemywania wodą demineralizowaną powtarzano 20- krotnie na filtrze do zaniku białka w przesączu i uzyskania odczynu aglomerowanego produktu mikrokrystalicznego pH = 7,35.

Otrzymano 30 cz. wag aglomeratów chitozanu nie zawierającego białek, charakteryzującego się zawartością 3,15% wag. polimeru,  $\bar{M}_v=750$  kD, DD=85,6%, WRV=680% i zawartością popiołu 0,12%.

Przykład II. Do mieszalnika jak w przykładzie I, wprowadzono 99 cz. wag 2,0% wodnego roztworu kwasu octowego i 1,2 cz. wag. chitozanu w postaci płatków o właściwościach jak w przykładzie I. Chitozan rozpuszczano w trakcie mieszania z prędkością 120 obr/min w czasie 3 godzin, po czym uzyskany roztwór filtrowano na prasie ramowej otrzymując 96 cz. wag roztworu zawierającego 1,15% wag chitozanu. Do przefiltrowanego roztworu w reaktorze zaopatrzonym w płaszcz chłodzący i wysokoobrotowe mieszadło, przy ciągłym mieszaniu z prędkością 500 obr/min, dodawano mieszadło, przy ciągłym mieszaniu z prędkością 500 obr/min, dodawano stopniowo 88 cz. wag. 1,5% wodnego roztworu wodorotlenku sodowego do uzyskania pH= 8,2 i pełnego wytrącenia aglomerowanego mikrokrystalicznego produktu. Uzyskaną dyspersję zatężano na nuczy otrzymując 40 cz. wag aglomeratu, który wprowadzono do mieszalnika wyposażonego w wolnoobrotowe mieszadło i poddano go przez 3 godziny, w temperaturze 20<sup>0</sup>C, działaniu 80 cz. wag. 5,0% wodnego roztworu wodorotlenku sodowego, przy mieszaniu z prędkością 30 obr/min. Następnie mieszanie zatężano na nuczy uzyskując 40 cz. wag. dyspersji chitozanu, który ponownie przenoszono do mieszalnika i zalewano 40 cz. wag. wody demineralizowanej o pH=6,5. Zawartość mieszalnika homogenizowano przez 15 min i filtrowano kontrolując zawartość białka w przesączu i dyspersji. Proces przemywania wodą demineralizowaną powtarzano na filtrze 20- krotnie do zaniku białka w przesączu i uzyskania odczynu aglomerowanego produktu mikrokrystalicznego pH = 7,40.

Otrzymano 28 cz. wag dyspersji aglomeratów chitozanu nie zawierającego białek, charakteryzującego się zawartością 3,41% wag. polimeru,  $\bar{M}_v=760$  kD, DD=85,6%, WRV=820% i zawartością popiołu 0,12%.

Przykład III. Do mieszalnika jak w przykładzie I, wprowadzono 99 cz. wag 1,0% wodnego roztworu kwasu mleковego i 1 cz. wag. chitozanu w postaci proszku o  $\bar{M}_v=400$  kD, DD=79,2%, wilgotności 5,68%, zawartości popiołu 1,3%, WRV=244% i zawartości białek wynoszącej 600 ppm. Chitozan rozpuszczano podczas mieszania z prędkością 100 obr/min w czasie 2,5 godzin, po czym uzyskany roztwór filtrowano na prasie ramowej otrzymując 95 cz. wag roztworu zawierającego 0,98% wag chitozanu. Do przefiltrowanego roztworu w reaktorze zaopatrzonym w płaszcz chłodzący i wysokoobrotowe mieszadło, przy ciągłym mieszaniu z prędkością 400 obr/min, dodawano stopniowo 53,5 cz. wag. 0,5% wodnego roztworu wodorotlenku potasowego do uzyskania pH= 8,0 i pełnego wytrącenia aglomerowanego produktu mikrokrystalicznego. Uzyskaną dyspersję zatężano na wirówce filtracyjnej w wyniku czego uzyskano 30 cz. wag aglomeratu, który wprowadzono do mieszalnika, wyposażonego w wolnoobrotowe mieszadło i poddano działaniu 60 cz. wag. 5,0% wodnego roztworu wodorotlenku potasowego przez 5 godzin przy prędkości 30 obr/min, w temperaturze 20<sup>0</sup>C. Następnie mieszankę zatężano na wirówce uzyskując 30 cz. wag. dyspersji chitozanu, który ponownie przenoszono do mieszalnika i zalewano 30 cz. wag. wody demineralizowanej o pH=6,5. Zawartość mieszalnika homogenizowano przez 15 min i filtrowano kontrolując zawartość białka w przesączu i dyspersji. Proces przemywania wodą demineralizowaną powtarzano 22- krotnie na filtrze do zaniku białka w przesączu i uzyskania odczynu aglomerowanego produktu mikrokrystalicznego pH = 7,30.

Otrzymano 33 cz. wag aglomeratów chitozanu charakteryzującego się zawartością 2,92% wag. polimeru,  $\bar{M}_v$  370 kD, DD= 79,2%, zawartością popiołu 0,22%, WRV= 1050% i zawartością białek poniżej 10 ppm., spełniającego wymagania medyczne i farmaceutyczne.

Przykład IV. Do mieszalnika jak w przykładzie I, wprowadzono 99 cz. wag 0,4% kwasu solnego i 1 cz. wag. chitozanu w postaci płatków o  $\bar{M}_v = 850$  kD, DD=83,4%, wilgotności równej 13,0%, zawartości popiołu 0,59%, WRV=139% i zawartości białka wynoszącej 1750 ppm. Chitozan rozpuszczano podczas mieszania z prędkością 280 obr/min w czasie 2 godzin, po czym uzyskany roztwór filtrowano na prasie ramowej otrzymując 96 cz. wag roztworu zawierającego 0,99% wag chitozanu. Do przefiltrowanego

roztworu w reaktorze zaopatrzonym w płaszcz chłodzący i wysokoobrotowe mieszadło, przy ciągłym mieszaniu z prędkością 480 obr/min, dodawano stopniowo 43,0 cz. wag. 0,75% roztworu wodorotlenku sodowego do uzyskania pH= 6,46 a następnie dodawano 1:6 cz. wag. 0,50% roztworu wodorotlenku sodowego do uzyskania pH= 7,95 i pełnego wytrącenia aglomerowanego produktu mikrokrytalicznego. Uzyskaną dyspersję zatężano na nuczy otrzymując 39 cz. wag aglomeratu, który wprowadzono do mieszalnika wyposażonego w wolnoobrotowe mieszadło i poddano działaniu 78 cz. wag. 5,0% wodnego roztworu wodorotlenku sodowego przez 5 godzin, przy prędkości 30 obr/min, w temperaturze 20<sup>0</sup>C. Następnie mieszankę zatężano na nuczy uzyskując 40 cz. wag. dyspersji chitozanu, który ponownie przenoszono do mieszalnika i zalewano 40 cz. wag. wody demineralizowanej o pH=6,5. Zawartość mieszalnika homogenizowano przez 15 min i filtrowano kontrolując zawartość białka w przesączu i dyspersji. Proces przemywania wodą demineralizowaną powtarzano 20-krotnie na filtrze do uzyskania odczynu aglomerowanego produktu pH = 7,35.

Otrzymano 30 cz. wag aglomeratów chitozanu o zawartości białka na poziomie 350 ppm. Proces odbiałczania powtórzono jeszcze dwukrotnie. Za każdym razem proces prowadzono przez 3 godziny przy stosowaniu 1,0% wodnego roztworu wodorotlenku sodowego. W tym celu 30 cz. wag aglomeratów chitozanu częściowo odbiałczonego przenoszono do mieszalnika i zadawano 30 cz. wag. 1,0% wodnego roztworu wodorotlenku sodowego, po czym homogenizowano w temperaturze 20<sup>0</sup>C, przy prędkości 30 obr/min. Mieszankę zatężano na nuczy uzyskując 35 cz. wag. produktu, który ponownie przenoszono do mieszalnika i zalewano 35 cz. wag. wody demineralizowanej o pH=6,5. Zawartość mieszalnika homogenizowano przez 15 min i filtrowano kontrolując zawartość białka w przesączu i dyspersji. Proces przemywania wodą demineralizowaną powtarzano 12- krotnie na filtrze do uzyskania odczynu aglomerowanego produktu mikrokrytalicznego pH = 7,30.

Otrzymano 30 cz. wag aglomeratów chitozanu charakteryzującego się zawartością 3,15% wag. polimeru,  $\bar{M}_v=770$  kD, DD= 83,4%, WRV=900%, zawartością popiołu 0,15% i zawartością białek poniżej 10 ppm., spełniającego wymagania medyczne i farmaceutyczne.

Przykład V. Do mieszalnika jak w przykładzie I, wprowadzono 49 cz. wag 0,4% kwasu solnego i 1 cz. wag. chitozanu w postaci płatków o  $\bar{M}_v=240$  kD, DD= 84,3%, wilgotności równej 6,76%, zawartości popiołu 1,1%, WRV=140% i zawartości białek równej 728 ppm. Chitozan rozpuszczano podczas mieszania z prędkością 120 obr/min w

czasie 2,5 godzin, po czym uzyskany roztwór filtrowano na prasie ramowej otrzymując 48,5 cz. wag roztworu zawierającego 1,92% wag chitozanu. Do przefiltrowanego roztworu w reaktorze zaopatrzonym w płaszcz chłodzący i wysokoobrotowe mieszadło, przy ciągłym mieszaniu z prędkością 480 obr/min, dodawano stopniowo 26,5 cz. wag. 0,75% wodnego roztworu wodorotlenku sodowego do uzyskania pH= 8,2 i pełnego wytrącenia aglomerowanego produktu mikrokrytalicznego. Uzyskaną dyspersję zatężano na nuczy otrzymując 35 cz. wag aglomeratu, który wprowadzono do mieszalnika wyposażonego w wolnoobrotowe mieszadło i poddawano go działaniu 70 cz. wag. 5,0% wodnego roztworu wodorotlenku sodowego przez 3 godziny, przy prędkości 30 obr/min , w temperaturze 20<sup>0</sup>C. Następnie mieszalinę zatężano na nuczy uzyskując 40 cz. wag. dyspersji chitozanu, którą ponownie przenoszono do mieszalnika i zalewano 40 cz. wag. wody demineralizowanej o pH=6,5. Zawartość mieszalnika homogenizowano przez 15 min i filtrowano kontrolując zawartość białka w przesączu i dyspersji. Proces przemywania wodą demineralizowaną powtarzano 20- krotnie na filtrze, do zaniku białka w przesaczu i uzyskania odczynu aglomerowanego produktu pH = 7,35.

Otrzymano 30 cz. wag aglomeratów chitozanu charakteryzującego się zawartością 3,20% wag. polimeru,  $\bar{M}_v=230$  kD, DD=84,3%, zawartością popiołu 0,25%, WRV=750% i zawartości białka poniżej 10 ppm., spełniającego wymagania medyczne i farmaceutyczne.

Przykład VI. Do mieszalnika jak w przykładzie I, wprowadzono 99 cz. wag 2,0% kwasu octowego i 1,2 cz. wag. chitozanu w postaci płatków o właściwościach jak w przykładzie V. Chitozan rozpuszczało się podczas mieszania z prędkością 120 obr/min w czasie 3 godzin, po czym uzyskany roztwór filtrowano na prasie ramowej otrzymując 96 cz. wag roztworu zawierającego 1,15% wag chitozanu. Do przefiltrowanego roztworu w reaktorze zaopatrzonym w płaszcz chłodzący i wysokoobrotowe mieszadło, przy ciągłym mieszaniu z prędkością 500 obr/min, dodawano stopniowo 88 cz. wag. 1,5% wodnego roztworu wodorotlenku sodowego i węglanu sodowego (w stosunku wagowym 2:1) do uzyskania pH= 8,2 i pełnego wytrącenia aglomerowanego produktu mikrokrytalicznego. Uzyskaną dyspersję zatężano przez wirowanie w wyniku czego uzyskano 40 cz. wag aglomeratu, który wprowadzono do mieszalnika wyposażonego w wolnoobrotowe mieszadło i poddawano działaniu 80 cz. wag. 7,5% wodnego roztworu wodorotlenku sodowego przez 2 godziny, przy prędkości 30 obr/min , w temperaturze 20<sup>0</sup>C. Następnie mieszalinę zatężano na nuczy uzyskując 40 cz. wag. dyspersji chitozanu, którą ponownie przenoszono do mieszalnika i zalewano 40 cz. wag. wody demineralizowanej o pH=6,5.

Zawartość mieszalnika homogenizowano przez 15 min i filtrowano kontrolując zawartość białka w przesączu i dyspersji. Proces przemywania wodą demineralizowaną powtarzano na filtrze 20- krotnie do zaniku białka w przesączu i uzyskania odczynu aglomerowanego produktu mikrokrystalicznego pH = 7,40. Następnie uzyskany produkt przemywano 75 cz. wag. alkoholu etylenowego do uzyskania pH=7,25.

Otrzymano 28 cz. wag aglomeratów chitozanu charakteryzującego się zawartością 3,41% wag. polimeru,  $\bar{M}_v=220$  kD, DD= 84,3%, zawartością popiołu 0,15%, WRV=820% i zawartością białek poniżej 10 ppm., spełniającego wymagania medyczne i farmaceutyczne.

Przykład VII. Do mieszalnika jak w przykładzie I, wprowadzono 99 cz. wag 0,4% wodnego roztworu kwasu solnego i 1 cz. wag. chitozanu w postaci płatków o właściwościach jak w przykładzie I. Chitozan rozpuszczano podczas mieszania z prędkością 120 obr/min w czasie 2 godzin, po czym uzyskany roztwór filtrowano na prasie ramowej otrzymując 96 cz. wag roztworu zawierającego 0,99% wag chitozanu. Do przefiltrowanego roztworu w reaktorze zaopatrzonym w płaszcz chłodzący i wysokoobrotowe mieszadło, przy ciągłym mieszaniu z prędkością 480 obr/min, dodawano stopniowo 43 cz. wag. 0,75% roztworu wodorotlenku sodowego do uzyskania pH= 6,46 a następnie 21,7 cz. wag. 0,50% roztworu wodorotlenku sodowego do uzyskania pH= 8,03 i pełnego wytrącenia aglomerowanego produktu mikrokrystalicznego. Uzyskaną dyspersję zatężano na nuczy otrzymując 40 cz. wag aglomeratu, który wprowadzono do mieszalnika wyposażonego w wolnoobrotowe mieszadło, i poddano działaniu 80 cz. wag. 5,0% wodnego roztworu wodorotlenku sodowego przez 3 godziny, przy prędkości 30 obr/min, w temperaturze 20°C. Następnie mieszankę zatężano na nuczy uzyskując 40 cz. wag. dyspersji chitozanu, którą ponownie przenoszono do mieszalnika i zalewano 40 cz. wag. wody demineralizowanej o pH=6,5. Zawartość mieszalnika homogenizowano przez 15 min i filtrowano, kontrolując zawartość białka w przesączu i dyspersji. Proces przemywania wodą demineralizowaną powtarzano 20- krotnie na filtrze do zaniku białka w przesączu i uzyskania odczynu aglomerowanego produktu mikrokrystalicznego pH = 7,35. Uzyskany produkt zatężano przez wirowanie.

Otrzymano 30 cz. wag aglomeratów chitozanu nie zawierającego białek, charakteryzującego się zawartością 3,15% wag. polimeru,  $\bar{M}_v= 750$  kD, DD= 85,6%, WRV=800% i zawartością popiołu 0,12%.

INSTYTUT WŁÓKNIEN CHEMICZNYCH  
ul. M. Skłodowskiej-Curie 19/27  
90-570 Łódź — tel. 37-65-10  
Regon 000043133

Z-ca DYREKTORA  
ds. Naukowo - Badawczych  
Prof. dr hab. inż. Henryk Struszczuk

## Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób oczyszczania chitozanu z białek, znamienny tym, że chitozan zawierający białka, rozpuszczony w wodnym roztworze kwasu, przy stężeniu polimeru w roztworze nie niższym niż 0,001% wagowego, korzystnie 0,5-2% wagowych, poddaje się aglomeracji za pomocą wodnego roztworu wodorotlenku i/lub jego soli w czasie nie krótszym niż 1 minuta, korzystnie 30-120 minut, przy intensywnym mieszaniu z prędkością 100-1000 obrotów/minutę, po czym wytrącony aglomerowany mikrokrytaliczny produkt poddaje się działaniu wodnego roztworu wodorotlenku i/lub jego soli o stężeniu nie niższym niż 0,1% wagowego, korzystnie 1-10% wagowych, w czasie od 1 minuty do 100 godzin, a następnie ze środowiska reakcji usuwa się wodny roztwór wodorotlenku i/lub jego soli zawierający rozpuszczone białka, a pozostały produkt przemywa się wodą i/lub alkoholem do całkowitego usunięcia zanieczyszczeń, po czym zatęża się go i ewentualnie suszy znymi metodami.
2. Sposób według zastrz. 1, znamienny tym, że proces aglomeracji prowadzi się dwuetapowo, przy czym pierwszy etap – etap alkalizacji prowadzi się za pomocą wodnego roztworu wodorotlenku i/lub jego soli do uzyskania pH = 6,0-6,5, a następujący po nim proces właściwej aglomeracji produktu mikrokrytalicznego prowadzi się za pomocą wodnego roztworu wodorotlenku i/lub jego soli o niższym niż w pierwszym etapie stężeniu, przy zachowaniu stosunku stężeń w obu etapach wynoszącego odpowiednio od 1 : 0,1 do 1 : 0,9.
3. Sposób według zastrz.1, znamienny tym, że stosuje się wodne roztwory chitozanu w kwasie solnym, octowym lub mlekowym.
4. Sposób według zastrz. 1, znamienny tym, że w procesie aglomeracji chitozanu stosuje się wodorotlenek potasowy lub sodowy i/lub ich sole, jak węglan potasowy lub węglan sodowy.

5. Sposób według zastrz.1, znamienny tym, że wodny roztwór wodorotlenku i/lub jego soli zawierający rozpuszczone białko usuwa się ze środowiska reakcji poprzez filtrację, ultrafiltrację, sedymentację czy odwirowanie.

INSTITUTE OF POLYMERS CHEMISTRY  
ul. M. Skłodowskiej-Curie 19/27  
90-570 Łódź — tel. 37-65-10  
Regon 00043133

Z-ca DZREKIERA  
ds. Nauk. ds. B. Bawułych  
Prof. dr hab. inż. Henryk Struszczyk

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**